

O Relógio Biológico e os ritmos circadianos de mamíferos: uma contextualização histórica

The Biological Clock and the circadian rhythms of mammals: a history contextualization

Leila Eliza Barbosa Lima^{1,*}, Natalí Nadia Guerrero Vargas²

¹Departamento de Fisiologia, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo

²Departamento de Fisiología Celular, Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México

*Contato do autor: le.biousp@gmail.com

Resumo. O termo “relógio biológico” se refere ao conjunto de mecanismos endógenos capazes de conferir ritmicidade a processos fisiológicos e comportamentais do organismo independentemente das pistas ambientais externas. As estruturas responsáveis por gerar esta ritmicidade são denominadas “osciladores” e sua capacidade oscilatória circadiana é decorrente da expressão rítmica de certas proteínas ao longo do dia, codificadas pelos “genes do relógio”. Nos mamíferos, o oscilador central é composto pelos núcleos supraquiasmáticos (NSQs), os quais são capazes de sincronizar o ritmo das outras células do corpo e os osciladores periféricos ao ciclo claro/escuro ambiental, permitindo que o organismo seja capaz de prever as variações externas circadianas. Fatores genéticos ou ambientais que prejudiquem esta sincronia podem causar diversos distúrbios fisiológicos, inclusive algumas formas de câncer.

Palavras-chave. Ritmo circadiano; Oscilador; Núcleos supraquiasmáticos; Genes do relógio.

Abstract. The term “biological clock” refers to the set of endogenous mechanisms able to confer rhythmicity to physiological and behavioral processes in the body, regardless of external environmental cues. The structures responsible for generating this rhythmicity are called “oscillators” and its circadian oscillatory ability is due to the rhythmic expression of certain proteins throughout the day, encoded by “clock genes”. In mammals, the central oscillator is composed of the suprachiasmatic nuclei (SCN), which are able to synchronize the rhythm of the other body cells and peripheral oscillators to the environmental light / dark cycle, allowing the body to be able to predict the external circadian variations. Genetic or environmental factors that impair this synchrony may cause several physiological disorders, including some forms of cancer.

Keywords. Circadian rhythm; Oscillator; Suprachiasmatic nuclei; Clock genes.

Recebido 20set12

Aceito 25mai14

Publicado 30jul14

Ritmos biológicos: primeiras observações

A existência de ritmos biológicos em plantas, em animais e no homem foi relatada em muitos textos e livros no início da história do homem. Referências sobre eventos biológicos cíclicos podem ser encontradas, por exemplo, no livro do Gênesis e de Eclesiastes, nos relatos de Hipócrates, Aristóteles, entre outros. Porém, a primeira descrição detalhada e com caráter científico que se tem notícia é a de Andrôstenes de Thasos em 325 a.C. (apud Schildknecht, 1983), o qual descreveu o movimento diário das folhas da planta *Tamarindus indicus*. No entanto, os primeiros relatos assumiam que esta oscilação de movimentos foliares era uma resposta direta ao estímulo ambiental. Somente dois mil anos depois, em 1729, foram retomadas as des-

crições de movimentos foliares, as quais foram realizadas por Jean Jaques de Mairan. Este astrônomo francês havia observado o movimento periódico das folhas da planta *Mimosa pudica* ao longo do dia e que, mesmo quando era mantida em condição constante de iluminação, sua alternância cíclica diária de movimentos foliares persistia (apud Moore-Ede et al., 1982). Dessa maneira, foi demonstrado que este ritmo biológico persistia mesmo na ausência de pistas ambientais externas, ou seja, não constituía respostas diretas dos estímulos ambientais. Mais tarde, de Candolle em 1835, percebeu que esta mesma planta, mantida em escuridão constante, apresentava um ritmo foliar que variava entre 22 e 23 horas, mas que, em condições normais de iluminação, seu ciclo era ajustado para 24 horas. Isso significa que a manutenção deste rit-

mo é uma expressão da ritmicidade endógena da planta, mas é passível de sincronização pela variável claro/escuro ambiental.

Desde então, passaram a ser observados diversos ritmos que apresentavam períodos de aproximadamente um dia em diversos organismos vegetais e animais, mesmo quando mantidos em condições ambientais constantes. Estes ritmos são denominados “ritmos em livre-curso” e continuam a se expressar durante dias, meses ou anos dependendo da espécie estudada (Marques et al, 1997). O novo período que passa a se expressar no livre-curso é representado pela letra grega “ τ ” (tau) e é característico de uma espécie, podendo haver ligeiras diferenças interindividuais (Marques et al, 1997).

Até meados do século XX, já se havia acumulado um grande número de investigações sobre a ocorrência de ritmos biológicos circadianos e já se visualizava o conceito de um temporizador interno (DeCoursey, 2004). Porém, o termo “Relógio Biológico” foi cunhado pela primeira vez apenas no final da década de 40 pelo cientista alemão Gustav Kramer em seus trabalhos com migração de aves. Ele argumentara que, para que as aves migrassem para o norte na primavera tendo como referência um ponto em constante movimento (o sol), elas necessitariam de uma entidade fisiológica precisa na contagem do tempo, ou seja, um relógio biológico (Kramer, 1952).

Nessa mesma época, já se havia notado que diversas oscilações externas eram capazes de sincronizar os ciclos endógenos de mamíferos, como o ciclo claro/escuro ambiental, temperatura externa, hábito alimentar entre outros (Rotenberget al, 1997). Estas variáveis ambientais foram denominadas “doadoras de tempo” ou “*zeitgebers*”, em alemão, pelo cientista Aschoff (1951), “agentes arrastadores” por Pittendrigh (1960) e “sincronizadores” por Halberg (1960).

Outros trabalhos que faziam alusão à entidade fisiológica do relógio referenciada por Kramer são os de Curt P. Richter de 1960. Segundo ele, os relógios biológicos seriam “instrumentos do corpo para manter a contagem do tempo, independentemente das pistas ambientais externas”. Essa conclusão surgiu através da observação de que, pacientes hospitalizados, apresentavam ritmos fisiológicos de moléstias com períodos diferentes de 24h, indicando a capacidade do organismo em contar o tempo em diversas unidades. Richter sugeriu também que os diferentes relógios internos podem envolver um ou mais órgãos do corpo e que a localização desses relógios poderia ser periférica ou central.

Dessa forma, Richter foi o primeiro a vislumbrar uma identidade anatômica definida para o relógio biológico em mamíferos e, por isso, deu continuidade a estudos nesse campo nos anos seguintes.

A busca pelo relógio biológico central

O reconhecimento de estruturas centrais do sistema de temporização de mamíferos começou com os experimentos originais de Curt Richter nos anos seguintes (1965, 1967), que consistiam na lesão progressiva do sistema

nervoso central e observação da permanência ou abolição dos ritmos diários de ratos. Destes experimentos, concluiu que o centro responsável pela ritmicidade encontrava-se no hipotálamo. Partindo do princípio de que o sincronizador ambiental mais importante era o ciclo claro/escuro, o grupo de Robert Moore iniciou sua busca pelos olhos e descreveu, pela primeira vez, a via retino-hipotalâmica (Moore e Lenn, 1972) a qual terminava em dois pequenos núcleos na base do cérebro: os núcleos supraquiasmáticos (NSQs).

Logo a seguir, demonstrou-se que, tanto o ritmo circadiano de liberação da corticosterona, como os ritmos circadianos de atividade e de ingestão de água, eram suprimidos pela lesão dos NSQs em ratos (Moore e Eichler, 1972; Stephan e Zucker, 1972). Nesta mesma linha de experimentos, destacam-se os trabalhos do grupo de Michael Menaker, que inicialmente demonstrou que a extirpação da glândula pineal causava arritmicidade em pardais (Gaston e Menaker, 1968), indicando um importante papel deste órgão para os ritmos endógenos em aves.

Em 1979, Inouye e Kawamura conseguiram isolar os NSQs de ratos in vivo, cortando todas as ligações neurais entre os NSQs e o restante do cérebro, construindo o que eles descreveram como “ilha hipotalâmica”. Neste experimento, eles observaram que, antes do isolamento, a atividade elétrica do hipotálamo e do núcleo caudado apresentavam ritmicidade circadiana. Porém, isolando-se os NSQs, apenas a ritmicidade circadiana da atividade neural no interior da área isolada persistia, indicando que os núcleos supraquiasmáticos eram, de fato, as estruturas responsáveis por conferir a oscilação endógena central. No mesmo ano, Inouye e Kawamura estabeleceram alguns critérios para que uma estrutura pudesse ser considerada um oscilador endógeno: ritmicidade autônoma do tecido quando isolado do resto do organismo e mantido em cultura (in vitro); e competência do tecido de restaurar a ritmicidade com seu próprio período quando implantado em hospedeiros arrítmicos (Kawamura e Inouye, 1979). Portanto, o último quesito a ser contemplado para a identificação dos NSQs como osciladores centrais de mamíferos era a verificação do segundo critério. Isso só foi possível em 1990, quando hamsters “ τ -mutantes” tiveram seus NSQs ($\tau \approx 21h$) implantados em hamsters selvagens ($\tau \approx 24h$), e vice-versa. Os animais selvagens, ao terem os NSQs lesionados, ficaram arrítmicos e, após o transplante, passaram a apresentar ritmos de atividade-reposo com o mesmo período do doador mutante (Ralph et al., 1990). Confirmara-se, então, o papel dos NSQs como oscilador central em mamíferos. Da mesma forma, estudos com glândulas pineais de aves confirmaram seu papel central como temporizador em algumas espécies. Porém, em outras, verificou-se uma hierarquia entre osciladores, incluindo os olhos, a pineal e os NSQs (Cassone e Menaker, 1984).

Ritmicidade do oscilador: mecanismos celulares

O próximo passo de caracterização dos NSQs consistiu em se investigar quais processos celulares estariam

envolvidos na contagem do tempo por estas estruturas. Até então, havia sido demonstrado que estes neurônios apresentavam ritmos circadianos autossustentados de consumo de glicose e de disparos de potenciais de ação (Schwartz e Gainer, 1977; Schwartz et al., 1980). Pressupôs-se, então, que o ritmo metabólico era uma consequência do ritmo da atividade elétrica destes neurônios, a qual foi a primeira variável candidata a ser responsável por conferir a ritmicidade endógena do oscilador. Um experimento chave utilizado para se testar essa última hipótese foi realizado bloqueando-se o potencial de ação dessas células pela perfusão crônica de tetrodotoxina (TTX) nos NSQs de ratos cegos (ritmos em livre-curso) (Schwartz et al., 1987). Os animais perfundidos com solução-veículo apresentaram ritmo de atividade em livre-curso, conforme o esperado, enquanto que os animais perfundidos com TTX tornaram-se totalmente arrítmicos durante a perfusão. Porém, após o término da perfusão, os animais não só retomaram seu ritmo de atividade em livre-curso, com o mesmo τ , como também retomaram a mesma fase prevista caso o livre-curso não tivesse sido interrompido. Dessa forma, foi constatado que a atividade elétrica dos NSQs corresponde somente a uma eferência deste oscilador, mas não à variável chave para contagem do tempo, pois esta função continuou a ser executada mesmo na presença de TTX. Portanto, foi dada continuidade a estudos neste campo, com o intuito de se encontrar os mecanismos que, de fato, realizam a contagem do tempo pelos NSQs.

Bases genéticas e moleculares do Sistema Circadiano

Desde a década de 60, já era relatada a expressão de ritmos biológicos em organismos unicelulares (Karakashian e Hasting, 1962; Goto et al., 1985), sugerindo que uma única célula poderia apresentar os componentes de um relógio biológico completo. Logo, os mecanismos responsáveis pela oscilação endógena verificada nos NSQs deveriam ser realizados no nível celular.

A ritmicidade endógena observada até então, tanto nos organismos menos organizados como nos metazoários, sugeriu que a rotação do nosso planeta foi tão marcante ao longo da evolução dos organismos, que os ritmos biológicos diários, associados ao ciclo dia/noite, deveriam possuir uma base genética para se perpetuarem. Essa teoria pôde ser confirmada com os estudos de Konopka e Benzer (1971), os quais observaram que algumas moscas da espécie *Drosophila melanogaster* apresentavam aberrações em seus ritmos de eclosão de ovos e de locomoção. Uma das linhagens de moscas mutantes estudadas, em condições constantes de iluminação, era totalmente arrítmica, outra exibia um período de 19h e a terceira tinha período de 28h em relação ao ritmo de eclosão das pupas. O ritmo de locomoção também se encontrava alterado nessas linhagens, sugerindo uma alteração da expressão do relógio circadiano. A partir disso, por meio de cruzamentos e observação dos recombinantes, concluíram que as mutações responsáveis pelos fenótipos encontrados estavam localizadas na mesma região (gene) do cromossomo X. Pelo

fato de essas mutações resultarem em uma alteração no período dos ritmos, até mesmo em condições constantes, o gene mutado recebeu o nome de “*Per*” (*Period*), e foi o primeiro “gene do relógio” a ser identificado. Mais tarde, Hardin e colaboradores (1990) observaram um acúmulo cíclico de RNA mensageiro de *Per* em *Drosophila*, e que a proteína traduzida regulava negativamente a transcrição do seu próprio gene por um mecanismo conhecido como autorregulação ou retroalimentação negativa. O conhecimento deste mecanismo de controle cíclico da expressão gênica abriu um novo campo de estudo em relação aos ritmos biológicos e as bases moleculares da ritmicidade se tornaram alvos de intensa investigação em vários organismos, incluindo cianobactérias, *Neurospora*, plantas superiores, *Drosophila*, e mamíferos (Dunlap, 1990; Reppert e Weaver, 2002).

Atualmente, sabe-se que pelo menos 11 proteínas distintas estão envolvidas na expressão da ritmicidade do relógio central de mamíferos: PERIOD1, PERIOD2, PERIOD3, CLOCK, BMAL1 (em inglês, *brain and muscle ARNT-like1*, onde ARNT= *arylhydrocarbon receptor nuclear translocator*), CRYPTOCHROME1, CRYPTOCHROME2, CASEÍNA QUINASE I α , REV-ERB α e β (Pando e Sassone-Corsi, 2001) e ROR (receptor órfão relacionado ao ácido-retinóico; Dardente e Cermakian, 2007). Assim como em drosófilas, essas proteínas encontram-se altamente relacionadas com as alças de autorregulação e atuam sob a forma de heterodímeros.

A primeira alça de retroalimentação negativa é composta por CLOCK (CLK) e BMAL1 (Gekakis et al., 1998), elementos que são membros da família de fatores de transcrição que apresentam o domínio bHLH-PAS (em inglês, *basic helix-loop-helix*, *Period-ARNT-single-minded*). Estas duas proteínas formam um heterodímero capaz de se ligar a promotores gênicos que contenham uma sequência E-box, regulando a transcrição de genes como *Period* (*Per1*, *2* e *3*) e *Cryptochrome* (*Cry1* e *2*). A retroalimentação negativa é realizada pelo heterodímero de proteínas PER:CRY que transloca-se ao núcleo e, após atingir determinada concentração, interage com o heterodímero CLK:BMAL1, inibindo sua atividade de promoção de transcrição. Como consequência, os níveis de RNAm e de suas respectivas proteínas, PER e CRY, vão decrescendo até tornarem-se insuficientes para reprimir a atividade do heterodímero CLK:BMAL1, o qual, então, volta a ativar a transcrição daqueles genes, reiniciando um novo ciclo (Yoo et al., 2005).

Ao mesmo tempo, o mesmo heterodímero CLK:BMAL1 inicia outra alça de retroalimentação: ativa a transcrição do gene *Rev-erba*, cuja respectiva proteína compete com a proteína ROR pela ligação ao elemento responsivo ao ROR (ROREs), presente no promotor de *Bmal1*. Ao se ligar ao promotor, essas proteínas possuem ações antagônicas: ROR ativa a transcrição de *Bmal1* enquanto que REV-ERB a inibe (Ko e Takahashi, 2006). O aumento da concentração de BMAL1, portanto, promove a inibição da transcrição do próprio gene por meio do aumento dos níveis de REV-ERB.

Todos esses ciclos em conjunto levam cerca de 24h para se completarem e a concentração fásica dessas dife-

rentes proteínas é o que constitui a base molecular do relógio biológico.

Modificações pós-traducionais, como a atividade de fosforilação de caseínas quinases (CK I ϵ e δ), também são essenciais para a regulação rítmica desses diferentes fatores, propiciando a estabilidade e a translocação nuclear adequadas. Sua relevância foi demonstrada em organismos mutantes que não expressavam essas quinases e apresentavam fenótipos com ritmos circadianos alterados (Gachonet et al., 2004). Outra característica de extrema importância dessa maquinaria é o fato de que as proteínas do relógio não só regulam a transcrição dos seus próprios genes como também a de outros genes alvos. Tais genes são denominados, em conjunto, de Ccgs, (*Clock-controlled genes*) e possuem o elemento E-box em sua região promotora, o que faz com que suas transcrições sejam dependentes dos componentes do relógio biológico (CLK:BMAL1). Eles codificam as mais diversas substâncias, como neuropeptídeos, vasopressina, neurotransmissores, hormônios, fatores de transcrição, moléculas de sinalização intracelular, dentre outros (Duffield, 2003). Estas substâncias, por sua vez, regulam a atividade dos neurônios dos NSQs, os quais sincronizam o restante do organismo através de inervações diretas sobre o tecido-alvo ou por secreção hormonal (Bozaket et al., 2009). Dessa forma, os Ccgs constituem o mecanismo molecular de eferência do relógio biológico central, ou seja, o mecanismo pelo qual a oscilação rítmica

endógena central é passada ao organismo, resultando na expressão de diversos ritmos endógenos circadianos.

Para que ocorra a sincronização desta maquinaria molecular ao ciclo claro/escuro ambiental, deve ocorrer uma resincronização (*reset*, em inglês) diária da maquinaria pela informação luminosa (Fig. 1). Em mamíferos, acredita-se que a proteína do oscilador central que exerce o papel de sincronizar as alças de autorregulação às informações ambientais seja a PERIOD1. Isso porque os níveis de seu RNAm aumentam rapidamente após um pulso de luz, enquanto os outros componentes não são imediatamente alterados (Field, 2000).

Osciladores periféricos

Pouco depois da identificação dos NSQs como relógio biológico central, foram realizados experimentos testando-se a permanência de ritmos biológicos em animais com NSQs lesionados. Foram obtidos resultados que indicaram que a lesão não modificava o ritmo de temperatura corporal de ratos (Krieger et al., 1977; Albers e Ferris, 1984) e que a restrição da disponibilidade de alimentos sincronizava diversos ritmos circadianos de ratos lesionados (Krieger, 1974; Krieger et al., 1977). Estas observações indicaram que, além dos NSQs, outras regiões deveriam também estar envolvidas na expressão da ritmicidade endógena e que, portanto, deveria haver uma hierarquia no

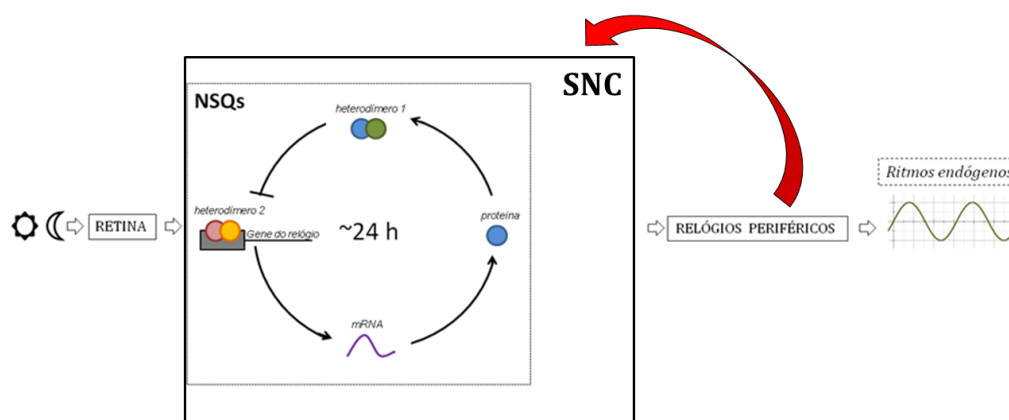


Figura 1. Sistema circadiano de mamíferos. Os sistemas de temporização circadianos consistem de, pelo menos, três elementos: a via aferente que transmite informações ambientais, um ou mais osciladores circadianos, e vias eferentes por meio das quais o oscilador sincroniza a expressão dos diversos ritmos. Nos mamíferos, a informação luminosa é percebida pela retina e transmitida aos núcleos supraquiasmáticos através do trato retino-hipotalâmico. Estes núcleos possuem uma maquinaria celular composta pelos genes do relógio e por suas proteínas correspondentes. Essas proteínas regulam sua própria transcrição gênica por meio de alças de retroalimentação negativa, mecanismo básico no qual os genes do relógio regulam a transcrição de seus próprios componentes e de outros genes alvos, expressando assim uma ritmicidade autossustentada, cujo período gira em torno de 24 horas. Esta ritmicidade é retransmitida, por meio de eferências hormonais e neurais, aos diversos relógios periféricos do corpo, possibilitando a sincronia adequada do meio interno ao meio externo. Dessa forma, o sistema circadiano dos mamíferos é diariamente sincronizado pela informação fótica ambiental e por eferências neurais e hormonais, por meio das quais o oscilador sincroniza a expressão dos diversos ritmos endógenos, do nível celular ao fisiológico. Os sinais metabólicos, hormonais e neurais resultantes da atividade dos órgãos periféricos também participam da sincronização do organismo por meio de alças de autorregulação sobre o SNC, permitindo o ajuste metabólico interno às variações ambientais. A seta vermelha representa a alça de retroalimentação; as setas cheias representam ativação, e o traço, inibição.

sistema de temporização circadiana de mamíferos. Em 1998, foram realizados um dos primeiros experimentos que vieram a confirmar o caráter oscilatório de tecidos periféricos. Balsalobre e colaboradores (1998) demonstraram que a estimulação de culturas de fibroblastos com soro induzia a expressão circadiana dos genes do relógio *c-fos* e *Per*, de forma semelhante aos efeitos provocados pela luz nos NSQs. Desde então, os tecidos e órgãos que apresentam essa capacidade oscilatória são chamados de “osciladores periféricos”.

A atividade destes osciladores também depende de alças de autorregulação de genes e proteínas do relógio, porém possuem *zeitgebers* distintos daqueles dos NSQs, pois respondem a diferentes estímulos ambientais e fisiológicos. O principal sincronizador dos NSQs é a informação do claro-escuro, enquanto que os relógios periféricos podem ter seus ritmos arrastados ou “resetados” pelo estímulo alimentar, por exemplo, sem que o período do relógio central seja alterado (Damolaet al., 2000; Stokkanet al., 2001). O funcionamento ótimo do sistema circadiano é resultante da integração da informação de diferentes *zeitgebers* pelos diferentes osciladores do sistema.

Sincronia interna: do relógio central aos periféricos

Nos mamíferos, a informação luminosa é percebida pela retina e transmitida aos núcleos supraquiasmáticos através do trato retino-hipotalâmico. As projeções dos NSQs, por sua vez, possuem, pelo menos, quatro alvos neuronais: neurônios endócrinos, neurônios autonômicos do núcleo paraventricular do hipotálamo (PVN), outras estruturas hipotalâmicas, e áreas externas ao hipotálamo (Colwell, 2011). Estas vias eferentes são capazes de sincronizar os relógios periféricos, controlando diversas funções fisiológicas, tais como o momento de liberação hormonal, o comportamento alimentar e as flutuações de temperatura (Buijs e Kalsbeek, 2001).

A atividade metabólica dos órgãos periféricos, por sua vez, é informada ao hipotálamo diretamente através de hormônios, através de axônios do núcleo do trato solitário (NTS) ou indiretamente por meio de projeções dos núcleos parabraquiais (Buijs e Kalsbeek, 2001). Sabendo-se que o NTS e os núcleos parabraquiais possuem como alvos as mesmas estruturas hipotalâmicas inervadas pelos NSQs, acredita-se que o ritmo dos osciladores periféricos sejam sincronizados tanto por eferências dos NSQs quanto por alças de autorregulação, que reforçam a mensagem proveniente do relógio central, ambos atuando sobre o hipotálamo (Buijs e Kalsbeek, 2001; Kalsbeek et al, 2011). Dessa forma, essas conexões permitem que o organismo sincronize a informação ambiental externa à informação metabólica proveniente dos órgãos periféricos (Fig. 1).

Dessincronização do relógio interno

Muitos processos fisiológicos apresentam ritmos circadianos. Quando estes ritmos são interrompidos, sejam por fatores genéticos ou ambientais, muitos distúr-

bios sistêmicos são observados. Por exemplo, em casos de troca de turnos de trabalho ou de viagens transmeridionais, o sistema circadiano e seus osciladores não são ajustados imediatamente, resultando num estado transitório de dessincronização interna.

A troca de turno de trabalho força os indivíduos a estarem ativos quando deveriam estar em repouso e a estarem em repouso quando deveriam estar ativos. Estes sinais externos perturbadores induzem a perda de coerência entre o oscilador central e os periféricos e podem acarretar doenças que caracterizam o quadro de dessincronização interna: insônia, distúrbios cardiovasculares e gastrointestinais, obesidade, depressão, ansiedade, estresse, diabetes, desregulação dos ritmos metabólicos e endócrinos, esterilidade, e até mesmo algumas formas de câncer (Stokkan et al., 2001; Knutsson, 2003; Haus e Smolensky, 2006; Salgado-Delgado et al., 2008).

Conclusão

A expressão de ritmos biológicos em diversas formas de vida, dos organismos menos organizados aos mais complexos, indica que o princípio geral da organização temporal dos seres vivos foi preservado. Isto sugere que a dimensão temporal não representa apenas o cenário da evolução, mas também atua como fonte de importantes pressões seletivas impostas pelas variações cíclicas ambientais.

A expressão da ritmicidade endógena dos organismos, mesmo na ausência de pistas ambientais, foi a característica que instigou os pesquisadores a investigarem a estrutura responsável pela geração da oscilação interna, ou seja, o relógio central, e seus mecanismos celulares capazes de gerar esta oscilação. Atualmente, sabe-se que a contagem do tempo pelo relógio se dá pela maquinaria celular composta pelos genes do relógio e por suas proteínas correspondentes. Essas proteínas regulam sua própria transcrição gênica por meio de alças de retroalimentação negativa, mecanismo básico no qual os genes do relógio regulam a transcrição de seus próprios componentes e de outros genes alvos, expressando assim uma ritmicidade circadiana autossustentada. No caso dos mamíferos, a informação luminosa ambiental, captada pela retina, é transmitida para os NSQs, os quais, pelas vias eferentes neuronais e hormonais, sincronizam a oscilação dos relógios periféricos ao ciclo claro/escuro ambiental. Dessa maneira, a sincronia interna, desde o nível molecular até o sistêmico, permite que os processos fisiológicos e comportamentais sejam coordenados temporalmente de forma que o organismo seja capaz de prever e antecipar as variações cíclicas do ambiente. Qualquer incoerência entre as informações ambientais recebidas pelo oscilador central e pelos periféricos ou quaisquer alterações transcrpcionais ou pós-transcrpcionais ocorridas na maquinaria molecular do relógio podem, portanto, prejudicar esta sincronia, causando diversos distúrbios fisiológicos, podendo induzir até mesmo algumas formas de câncer.

Referências

- Albers HE e Ferris CF. 1984. Neuropeptide Y: role in light-dark cycle entrainment of hamster circadian rhythms. *Neurosci. Lett.*, 50: 163-168.
- Albus, H et al. 2002. Cryptochrome-deficient mice lack circadian electrical activity in the suprachiasmatic nuclei. *Curr. Biol.* 12: 1130-1133.
- Aschoff J. 1951. Die 24-Stunden-Periodik der Maus unter konstanten Umweltbedingungen. *Naturwissenschaften*, 38: 506-507.
- Balsalobre A, Damiola F e Schibler U. 1998. A serum shock induces circadian gene-expression in mammalian tissue culture cells. *Cell*, 93: 929-937.
- Bozek K, Relógio A, Kielbasa SM, Heine M, Dame C, Kramer A e Herzog H. 2009. Regulation of clock-controlled genes in mammals. *PLoS ONE* 4, e4882.
- Buijs RM, Kalsbeek A. 2001. Hypothalamic integration of central and peripheral clocks. *Nat Rev Neurosci.* 2(7): 521-6.
- Cassone, VM e Menaker, M. 1984. Is the avian circadian system a neuroendocrine loop? *J. Exp. Zool.* 232: 539-549.
- circadian cycling of its messenger RNA levels. *Nature* 343: 536-540.
- Colwell CS. 2011. Linking activity and molecular oscillations in the SCN. *Nat Rev Neurosci.* 12(10): 553-569.
- Damiola F, Le Minh N, Preitner N, Kornmann B, Fleury-Olela F e Schibler U. 2000. Restricted feeding uncouples circadian oscillators in peripheral tissues from the central pacemaker in the suprachiasmatic nucleus. *Genes Dev* 14: 2950-2961.
- Dardente H e Cermakian N. 2007. Molecular circadian rhythms in central and peripheral clocks in mammals. *Chronobiology International* 24: 195-213.
- DeCoursey PJ. 2004. Overview of biological timing from unicellular organisms to humans. In: Dunlap JC, Loros JJ e DeCoursey PJ, editors. *Chronobiology – Biological Timekeeping*: Sinauer Associates p. 3-24.
- Duffield GE. 2003. DNA microarray analyses of circadian timing: the genomic basis of biological time. *Journal of Neuroend.* 15: 991-1002.
- Dunlap JC. 1990. Closely watched clocks: molecular analysis of circadian rhythms in *Neurospora* and *Drosophila*. *Trends in Genetics*, 6: 159-165.
- Field MD, Maywood ES, O'Brien JA, Weaver DR, Reppert SM e Hastings MH. 2000. Analysis
- Gachon F, Nagoshi E, Brown AS, Ripperger J e Schibler U. 2004. The mammalian circadian timing system: from gene expression to physiology. *Chromosoma* 113: 103-112.
- Gaston S e Menaker M. 1968. Pineal function: A biological clock in sparrows? *Science* 160: 1125-1127.
- Gekakis N, Staknis D, Nguyen HB, Davis FC, Wilsbacher LD, King DP, Takahashi JS e Weitz CJ. 1998. Role of the CLOCK protein in the mammalian circadian mechanism. *Science* 280: 1564-1569.
- Goto K, Laval-Martin DL e Edmunds LN Jr. 1985. Biochemical modelling of an autonomously oscillatory circadian clock in *Euglena*. *Science* 228: 1284-1288.
- Halberg F. 1960. Temporal coordination of physiologic function. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, 25: 289-310.
- Hardin PE, Hall JC e Rosbash M. 1990. Feedback of the *Drosophila* period gene product on
- Haus E e Smolensky M. 2006. Biological clocks and shift work: circadian dysregulation and potential long-term effects. *Cancer Causes Control* 17: 489-500.
- Inouye ST e Kawamura H. 1979. Persistence of circadian rhythmicity in a mammalian hypothalamic "island" containing the suprachiasmatic nucleus. *Proc. Nat. Acad. Sciences of USA* 76: 5962-5966.
- Kalsbeek A, Yi CX, Cailotto C, la Fleur SE, Fliers E, Buijs RM. 2011. Mammalian clock output mechanisms. *Essays Biochem.* 49(1): 137-51.
- Karakashian MW e Hastings JW. 1962. The inhibition of a biological clock by actinomycin D. *Proc. Nat. Acad. Sciences of USA* 48: 2130-2137.
- Kawamura H e Inouye ST. 1979. Circadian rhythm in a hypothalamic island containing the suprachiasmatic nucleus. In: Suda M, Hayaishi O, Nakagawa H editors, *Biological rhythms and their central mechanism*: Elsevier, p. 335-341.
- Knutsson A. 2003. Health disorders of shift workers. *Occup Med* 53: 103-108.
- Ko CH e Takahashi JS. 2006. Molecular components of the mammalian circadian clock. *Human Molecular Genetics* 15: 271-277.
- Konopka RJ e Benzer S. 1971. Clock mutants of *Drosophila melanogaster*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA* 68: 2112-2116.
- Kramer G. 1952. Experiments on bird orientation. *Ibis* 94: 265-285.
- Krieger DT. 1974. Ventromedial hypothalamic lesions abolish food-shifted circadian adrenal and temperature rhythmicity. *Endocrinology*, 106: 649-654.
- Krieger, DT, Hauser H e Krey LC. 1977. Suprachiasmatic nuclear lesions do not abolish food-shifted circadian adrenal and temperature rhythmicity. *Science* 197: 398-399.
- Marques MD, Golombek D e Moreno C. 1997. Adaptação temporal. In: Marques N e Menna-Barreto L, editors. *Cronobiologia: princípios e aplicações*. EDUSP/FIOCRUZ, p. 55-98.
- Moore RY e Eichler VB. 1972. Loss of a circadian adrenal corticosterone rhythm following suprachiasmatic lesions in the rat. *Brain Research* 42: 201-206.
- Moore, RY e Lenn NJ. 1972. A retinohypothalamic projection in the rat. *J. Comp. Neurol.* 146, 114.
- Moore-Ede MC, Sulzman FM e Fuller CA. 1982. *The clocks that time us: physiology of the circadian timing system*. Cambridge, Harvard University Press.
- of clock proteins in mouse SCN demonstrates phylogenetic divergence of the circadian clockwork and resetting mechanisms. *Neuron* 25: 437-447.
- Pando MP e Sassone-Corsi P. 2001. Signaling to the Mammalian Circadian Clocks: In Pursuit of the Primary Mammalian Circadian Photoreceptor. *Science Signaling*, 16.
- Pittendrigh CS. 1960. Circadian rhythms and the circadian organization of living systems. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, 25: 159-184.
- Ralph MR, Foster RG, Davis FC e Menaker M. 1990. Transplanted suprachiasmatic nucleus determines circadian period. *Science* 247: 975-978.
- Reppert SM e Weaver DR. 2002. Coordination of circadian timing in mammals. *Nature* 418: 935-941.
- Richter CP. 1965. Biological clocks in medicine and psychiatry. Springfield, C.C. Thomas.
- Richter CP. 1960. Biological clocks in medicine and psychiatry: shock-phase hypothesis. *Proc. Nat. Acad. Sciences of USA* 46: 1506-1530.
- Richter CP. 1967. Sleep and activity: their relation to the 24-hour clock. *Proc. Assoc. Res. Nerv. Ment. Dis.* 45: 8-27.
- Rotenberg L, Marques N e Menna-Barreto. 1997. História e perspectivas da cronobiologia. In: Marques N e Menna-Barreto L, editors. *Cronobiologia: princípios e aplicações*. EDUSP/FIOCRUZ, p. 31-53.

- Salgado-Delgado R, Angeles-Castellanos M, Buijs MR, Escobar C. 2008. Internal desynchronization in a model of night-work by forced activity in rats. *Neuroscience*, 154(3): 922-31.
- Schildknecht H. 1983. Turgorins, hormones of the endogenous daily rhythms in higher organized plants – detection, isolation, structure, synthesis and activity. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 22:695-710.
- Schwartz WJ e Gainer H. 1977. Suprachiasmatic nucleus: use of ¹⁴C-labeled deoxyglucose uptake as a functional marker. *Science* 197: 1089-1091.
- Schwartz WJ, Davidsen LC e Smith CB. 1980. In vivo metabolic activity of a putative circadian oscillator, the rat suprachiasmatic nucleus. *Journal of Comparative Neurology* 189: 157-167.
- Schwartz WJ, Gross RA e Morton MT. 1987. The suprachiasmatic nuclei contain a tetrodotoxin-resistant circadian pacemaker. *Proc. Nat. Acad. Sciences of USA* 84: 1694-1698.
- Stephan FK e Zucker I. 1972. Circadian rhythms in drinking behavior and locomotor activity of rats are eliminated by hypothalamic lesions. *Proc. Nat. Acad. Sciences of USA* 69: 1583-1586.
- Stokkan KA, Yamazaki S, Tei H, Sakaki Y e Menaker M. 2001. Entrainment of the circadian clock in the liver by feeding. *Science* 291: 490-493.
- Yoo SH, Ko CH, Lowrey PL, Buhr ED, Song EJ, Chang S, Yoo OJ, Yamazaki S, Lee C e Takahashi JS. 2005. A noncanonical E-box enhancer drives mouse *Period2* circadian oscillations in vivo. *Proc. Nat. Acad. Sciences of USA* 102: 2608-2613.
- Yoo SH, Yamazaki S, Lowrey PL, Shimomura K, Ko CH, Buhr ED, Siepka SM, Hong HK, Oh WJ, Yoo OJ, Menaker M e Takahashi JS. 2004. *PERIOD2::LUCIFERASE* real-time reporting of circadian dynamics reveals persistent circadian oscillations in mouse peripheral tissues. *Proc. Nat. Acad. Sciences of USA* 101: 5339-5346.